



ARTICOL DE CERCETARE

Hemoperitoneul posttraumatic abordat nonoperator în corelație cu indicii biochimici ai intoxicației, sistemului oxidativ și antioxidant

Eduard Aneste^{+1*}, Olga Tagadiuc⁺²,
Gheorghe Rojnoveanu⁺¹

¹Catedra de chirurgie nr. 1 „Nicolae Anestiadi”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Catedra de biochimie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 30.11.2017

Data acceptării spre publicare: 30.01.2018

Autor corespondent:

Aneste Eduard, doctorand

Catedra de chirurgie nr. 1 „Nicolae Anestiadi”

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: eduardaneste@gmail.com

RESEARCH ARTICLE

Evaluation of intoxication, oxidant and antioxidant system biochemical indices in patients with traumatic hemoperitoneum and nonoperative management

Eduard Aneste^{+1*}, Olga Tagadiuc⁺²,
Gheorghe Rojnoveanu⁺¹

¹Chair of surgery nr. 1 “Nicolae Anestiadi”, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Chair of biochemistry, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 30.11.2017

Accepted for publication on: 30.01.2018

Corresponding author:

Eduard Aneste, PhD fellow

Chair of surgery nr. 1 “Nicolae Anestiadi”

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: eduardaneste@gmail.com

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Nu este cunoscut dacă hemoperitoneul posttraumatic influențează intensitatea stresului oxidativ și afectează capacitatea funcțională a sistemului antioxidant.

Ipoteza de cercetare

Evaluarea parametrilor biochimici ce relevă intensitatea stresului oxidativ și activitatea sistemului antioxidant la două loturi comparabile de pacienți cu hemoperitoneu posttraumatic poate evidenția diferențe.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

A fost efectuată o evaluare biochimică complexă a traumatizațiilor cu hemoperitoneu. Au fost evaluați 6 indici biochimici. Inofensivitatea la nivel biochimic a hemoperitoneului posttraumatic nu a fost evaluată complex atât în literatura autohtonă, cât și în cea de peste hotare.

What is not known yet, about the topic

It is not known yet whether posttraumatic hemoperitoneum affects the intensity of oxidative stress and the functional capacity of the antioxidant system.

Research hypothesis

The evaluation of the biochemical parameters that reveal the intensity of the oxidative stress and the activity of the antioxidant system in two comparable groups of patients with posttraumatic hemoperitoneum can reveal differences.

Article's added novelty on this scientific topic

A complex biochemical assessment of trauma patients with hemoperitoneum has been performed. Six biochemical indices have been evaluated. The biochemical harmlessness of posttraumatic hemoperitoneum has not been evaluated in the national and international literature.

Rezumat

Introducere. Problema traumatismului a fost și rămâne una de importanță majoră. Traumatismul sever ocupă stabil locul VI în structura mortalității generale. În același timp, în

Abstract

Introduction. The problem of trauma has been and remains of major importance. Severe trauma occupies the sixth place in the general mortality structure. At the same time, in the

populația mai tânără de 35 de ani, traumatismul constituie cauza principală a deceselor și dizabilităților. Hemoperitoneul este unul dintre cele mai frecvente consecințe ale traumatismelor abdominale care se identifică în cca 80% cazuri. Totuși, datele literaturii nu sunt exhaustive și sistematizate privind impactul traumatismului, în general, și celui abdominal, în particular, cu și fără hemoperitoneu, asupra metabolismului, inclusiv, asupra intensității stresului oxidativ și capacității de protecție antioxidantă.

Material și metode. A fost efectuat un studiu prospectiv în cadrul Institutului de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova, în perioada 30 noiembrie 2011 – 01 decembrie 2016. În studiu au fost incluși 59 de traumatizați cu hemoperitoneu, care a fost diagnosticat și cuantificat prin metode imagistice (ultrasonografie și tomografie computerizată). Pacienții au fost divizați în 2 loturi, în baza volumului hemoperitoneului la spitalizare: lotul ≤ 500 ml ($n^1=38$) și lotul >500 ml ($n^2=21$).

Rezultate. Studiul efectuat a stabilit că nivelul seric al fierului total la pacienții cu hemoperitoneu se află în limitele valorilor de referință ($6,63\text{--}28,28$ $\mu\text{mol/l}$) în ambele loturi și pe durata întregului studiu – 1-a, a 3-a și a 5-7-a zi. Conținutul ceruloplasminei nu prezintă diferențe statistic semnificative la pacienții lotului II, comparativ cu cei din lotul I. Nu au fost identificate diferențe în nivelul de activitate antioxidantă totală la pacienții cu traumatisme și hemoperitoneu din ambele loturi, la toate etapele de studiu – 1-a, 3-a și a 5-7-a zi după traumă. Cercetarea a identificat valori semnificativ crescute ale NO în serul pacienților din ambele loturi, comparativ cu valorile de referință – $24,8 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/l}$ la bărbați și $24,4 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/l}$ la femei, ce atestă o amplificare a stresului nitrozativ. Valorile S-nitrozotiolilor la traumatizații lotului I are o dinamică analogică cu cea a NO, care la a 3-a zi au atins nivelul de 91% ($p<0,001$) de la cel inițial (la 1-a zi după traumă), iar la a 5-7-a zi – de 84%, respectiv. Evaluarea nivelului PPOA la traumatizații cu hemoperitoneu a identificat diminuarea progresivă a acestuia în ambele loturi, modificările fiind statistic veridice doar la pacienții lotului I la a 5-7-a zi de la traumatism. La acești bolnavi s-a atestat o scădere cu 29% ($p<0,05$) a valorilor PPOA în serul sangvin.

Concluzii. Tactica nonoperatorie în tratamentul hemoperitoneului posttraumatic la traumatizații stabili sau metastabili hemodinamici în lipsa altor indicații absolute pentru intervenție chirurgicală, este una sigură, cu evoluție favorabilă prin prisma parametrilor biochimici analizați.

Cuvinte cheie: hemoperitoneu, nonoperator, indici biochimici.

Introducere

Problema traumatismului a fost și rămâne una de importanță majoră. Traumatismul sever ocupă stabil locul VI în structura mortalității generale. În același timp, în populația mai tânără de 35 de ani, traumatismul constituie cauza principală a deceselor și dizabilităților. Accidentele rutiere reprezintă principala cauză a traumatismelor în țările slab și mediu dezvoltate [1], din care face parte și Republica Moldova. Traumatismul abdominal reprezintă o problemă medicală

population younger than 35 years, trauma is the main cause of deaths and disabilities. Hemoperitoneum is one of the most common consequences of abdominal trauma that is identified in about 80% of cases. However, the literature data are not exhaustive and systemic about the impact of general and abdominal trauma without and with hemoperitoneum on metabolism, including the intensity of oxidative stress and antioxidant protection capacity.

Material and methods. A prospective study was conducted at the Institute of Emergency Medicine, Chisinau, Republic of Moldova, from November 30, 2011 to December 1, 2016. The study included 59 traumatized with hemoperitoneum, which was diagnosed and quantified by imaging methods (ultrasonography and computed tomography). Patients were divided into two groups based on volume of hemoperitoneum at hospitalization: group ≤ 500 ml ($n^1=38$) and group >500 ml ($n^2=21$).

Results. The study found that total serum iron in patients with hemoperitoneum was within the reference values ($6.63\text{--}28.28$ $\mu\text{mol/l}$) in both groups throughout the 1st study, the 3rd and 5-7 days. The content of ceruloplasmin did not show statistically significant differences in group II patients compared to those in group I. There were no differences in total antioxidant activity in trauma patients with hemoperitoneum in both groups at all study stages – 1st, 3rd and 5-7th day after trauma. The research identified significantly increased NO values in the serum of patients in both groups compared to baseline values – 24.8 ± 0.02 $\mu\text{mol/l}$ in men and 24.4 ± 0.01 $\mu\text{mol/l}$ in females, which proves an increase in nitrous stress. S-nitrosothiol values in group I trauma patients are analogous to that of NO, which at day 3 reached 91% ($p<0.001$) from baseline (day 1 post-traumatic) and at baseline 5-7th day – 84%, respectively. The evaluation of the AOPP level in trauma patients with hemoperitoneum identified its progressive diminution in both groups, the changes being statistically significant only in patients of group I at 5-7 days after the trauma. At these patients, attested serum levels of AOPP were less by 29% ($p<0.05$).

Conclusions. Non-operative tactics in the treatment of posttraumatic hemoperitoneum in stable or metastabil hemodynamic traumatic patients, in the absence of other absolute indications for surgical intervention, is a safe one with favorable evolution in terms of the analyzed biochemical parameters.

Key words: hemoperitoneum, nonoperative, biochemical indices.

Introduction

The problem of trauma has been and remains of major importance. Severe trauma occupies the sixth place in the general mortality structure. At the same time, in the population younger than 35 years, trauma is the main cause of deaths and disabilities. Road accidents are the main cause of trauma in developed and weak developed countries [1], including the Republic of Moldova. Abdominal trauma is a major medical problem for all nations and socio-economic strata [2]. The abdomen is the region that is ranked third as lesional frequen-

majoră pentru toate națiunile și păturile socio-economice [2]. Abdomenul este regiunea care se situează pe locul III ca frecvență lezională [3]. Hemoperitoneul este unul dintre cele mai frecvente consecințe ale traumatismelor abdominale, care se identifică în cca 80% din cazuri [4].

În contextul aplicării pe larg a tratamentului nonoperator (TNO) a traumatizațiilor cu leziuni intraabdominale, care adesea sunt asociate cu hemoperitoneu [4], a apărut necesitatea identificării și validării unor markeri care pot servi drept indicatori ai inofesivității involuției hemoperitoneului abordat nonoperator. În acest context, s-a majorat numărul studiilor proceselor metabolice, inclusiv, ale stresului oxidativ și sistemului antioxidant, care ar putea fi asociate cu evoluția hemoperitoneului.

Studiile anterioare au relevat că diferite traumatisme sunt asociate cu creșterea nivelului proteinei C-reactive [5], de acid lactic [6] și piruvic, β -hidroxibutirat, α -cetoglutarat, creatinină, galactoză, acid arahidonic și linoleic, fosfați [7], procalcitonină [8], D-dimeri [9] și micșorarea conținutului de aminoacizi (alanină, valină, prolină, izoleucină și treonină) [7], hemoglobină, fibrinogen, FV, FXIII, proteină S, reducerea activității proteinei C [11].

În general, traumatismul abdominal determină majorarea nivelului procalcitoninei [12], acidului lactic, proteinei intestinale fixatoare de acizi grași (I-FABP) [13], mioglobinei, iar în asociere cu afectarea organelor abdominale, se atestă creșterea AST, ALT, lipazei și creatin kinazei [14].

Unele studii referitoare la traumatismul abdominal au inclus, de rând cu evaluarea nivelului a variați indicatori metabolici, și aprecierea unor markeri ai intensității stresului oxidativ și răspunsului antioxidant. Rana S. și coaut. (2006), au stabilit că la pacienții cu traume abdominale se atestă în ziua zero de la traumatism amplificarea stresului oxidativ, apreciat prin măsurarea intensității peroxidării lipidelor și diminuarea protecției antioxidante, relevată de nivelul GSH și activitatea catalazei și SOD [15]. Creșterea nivelului dialdehidei malonice (DAM) și a GSH a fost atestată în ser la animalele experimentale cu șoc hemoragic asociat cu traumatism abdominal [16]. De asemenea, într-un studiu experimental, efectuat de Zallen G. și coaut. (1999), s-a stabilit că la pacienții traumatizați neutrofilele eliberează cantități mai mari de superoxidanion radical, comparativ cu cele obișnuite [17].

Totuși, datele literaturii nu sunt exhaustive și sistematice privind impactul traumatismului, în general, și a celui abdominal, în particular, cu și fără hemoperitoneu, asupra metabolismului, inclusiv, asupra intensității stresului oxidativ și capacității de protecție antioxidantă. Rămâne actuală întrebarea dacă abordarea nonchirurgicală a hemoperitoneului posttraumatic poate fi cauza producerii agenților prooxidanți și inducerii stresului oxidativ și care ar fi răspunsul sistemului antioxidant în aceste circumstanțe, precum și ce impact la nivelul întregului organism au aceste modificări metabolice.

Astfel, realizarea unui studiu complex al modificărilor intensității stresului oxidativ și eficienței protecției antioxidante în evoluția hemoperitoneului la traumatizații tratați nonoperator este de o incontestabilă importanță științifică și practică.

cy [3]. Hemoperitoneum is one of the most common consequences of abdominal trauma that is identified in about 80% of cases [4].

In the context of extensive application of non-operative treatment (TNO) of traumatized patients with intra-abdominal injuries, which are often associated with hemoperitoneum [4], there is a need to identify and validate markers that can serve as indicators of the harmlessness of hemoperitoneum in evolution treated non-operative. In this context, the number of studies of metabolic processes, including oxidative stress and antioxidant system, has increased, which may be associated with the evolution of hemoperitoneum.

Previous studies have shown that various traumas are associated with increased levels of C-reactive protein [5], lactic acid [6] and pyruvic, β -hydroxybutyrate, α -ketoglutarate, creatinine, galactose, arachidonic acid and linoleic acid, phosphates [7], procalcitonin [8], D-dimers [9], and decrease in aminoacid content (alanine, valine, proline, isoleucine and threonine) [7], hemoglobin, fibrinogen, FV, FXIII, protein S, reduction of C-reactive protein [11].

In general, abdominal trauma determines elevation of procalcitonin [12], lactic acid, fatty acid-binding intestinal protein (I-FABP) [13], myoglobin, and increased AST, ALT, lipase and creatine kinase in association with abdominal organ damage [14].

Some studies of abdominal trauma included, along with the assessment of levels of metabolic indicators, the assessment of markers of oxidative stress intensity and antioxidant response. Rana S. and coaut. (2006), have established that in patients with abdominal trauma the increase in oxidative stress, assessed by measuring the intensity of lipid peroxidation and diminishing the GSH level and catalase and SOD activity [15], is confirmed on day 0 from trauma. The increase in malondialdehyde (DAM) and GSH was confirmed in serum in experimental animals with haemorrhagic shock associated with abdominal trauma [16]. Also in an experimental study by Zallen G. and coaut. (1999), it was established that in traumatized patients neutrophils release higher amounts of radical superoxidanion compared to the usual ones [17].

However, the literature data are not exhaustive and systemic about the impact of general and abdominal trauma without and with hemoperitoneum on metabolism, including the intensity of oxidative stress and antioxidant protection capacity. The question remains whether the non-surgical approach to post-traumatic hemoperitoneum may be the cause of prooxidative agents and oxidative stress induction, and which would be the response of the antioxidant system under these circumstances, as well as the impact on the whole body of these metabolic changes.

Thus, the realization of a complex study of changes in the intensity of oxidative stress and the effectiveness of antioxidant protection in the evolution of hemoperitoneum in non-operative treated traumas is of undeniable scientific and practical importance.

Material and methods

A prospective study was conducted at the Institute of Emergency Medicine, Chisinau, Republic of Moldova, from

Material și metode

A fost efectuat un studiu prospectiv în cadrul Institutului de Medicină Urgentă, Chișinău, Republica Moldova, în perioada 30 noiembrie 2011 – 01 decembrie 2016. Managementul traumatizațiilor la spitalizare și pe parcurs a fost asigurat de aceeași echipă de chirurghi cu experiență în traumatisme.

În studiu au fost incluși 59 de traumatizați cu hemoperitoneu, care a fost diagnosticat și cuantificat prin metode imagistice (ultrasonografie și tomografie computerizată). Rata de examinare imagistică a traumatizațiilor din lotul de studiu: USG – 59 (100%), TC – 48 (81,4%).

Traumatismul abdominal la pacienții cu traumatism abdominal izolat sau asociat a fost abordat nonoperator. Intervenții chirurgicale extraabdominale au fost efectuate la necesitate.

Pacienții au fost divizați în 2 loturi, în baza volumului hemoperitoneului la spitalizare: lotul ≤ 500 ml ($n^1=38$) și lotul >500 ml ($n^2=21$). Divizarea loturilor conform volumului hemoperitoneului a fost efectuată din mai multe cauze: (1) volumul hemoperitoneului mai mare de 500 ml de sânge constituie un factor de risc în sensul eșecului TNO; (2) cantitatea de 450-500 ml de sânge este volumul comun acceptat și recomandat de OMS care poate fi donat de către un donator fără a afecta starea de sănătate a acestuia și constituie 13% din volumul total al sângelui circulant [18], acceptat, inițial, drept criteriu optimal pentru inițierea TNO [19].

Algoritmul de examinare biochimică a traumatizațiilor a respectat următoarea periodicitate: la spitalizare, la a 3-a zi și la a 5-7-a zi. La pacienții din loturile de studiu au fost apreciați următorii parametri biochimici, care au fost studiați conform metodologiilor specificate în referințe: oxidul nitric [20, 21], S-nitrozotiolii [22, 23], produșii proteici de oxidare avansată (PPOA) [24, 25], produșii de glicare avansată (AGE) [26, 27], ceruloplasmina, activitatea antioxidantă totală (AAT) [28], fierului seric (kit standard *ELITECH Diagnostics*, Franța), cu utilizarea analizatoarelor Synergy H1 (*BioTek Instruments*, SUA) și *Bio Stack Ready* (*BioTek Instruments*, SUA) din cadrul Laboratorului de biochimie al USMF „Nicolae Testemițanu”.

Procesarea statistică a rezultatelor investigațiilor biochimice a fost efectuată cu ajutorul softului „StatsDirect”. A fost calculată media aritmetică \pm eroarea mediei ($X \pm m$). Pentru testarea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate, s-a utilizat testul statistic t-Student bicaudal nepereche și pragul de semnificație $p < 0,05$ [29, 30, 31].

Rezultate

Vârsta medie a pacienților a constituit $37,6 \pm 15,2$ ani, raportul bărbați : femei a fost de 2,7:1. S-au atestat următoarele valori medii ale scorurilor de gravitate: ISS = $22,92 \pm 11,92$; RTS = $7,36 \pm 1,01$ și TRISS = $90,43 \pm 18,28\%$.

Studiul efectuat a stabilit că nivelul seric al fierului total la pacienții cu hemoperitoneu se află în limitele valorilor de referință ($6,63-28,28$ $\mu\text{mol/l}$) în ambele loturi, pe durata întregului studiu – 1-a, a 3-a și a 5-7-a zi (Tabelul 1). Menținerea la nivel fiziologic a sideremiei atestă că resorbția hemoperitoneului nu este însoțită de acumularea ionilor de fier eliberați din hemoglobină în serul sangvin, aceștia fiind, probabil,

November 30, 2011 to December 1, 2016. The management of traumatized patients at the hospitalization and on the road was provided by the same team of surgeons with experience in trauma.

The study included 59 traumatized with hemoperitoneum, which was diagnosed and quantified by imaging methods (ultrasonography and computed tomography). The imaging examination rate of the traumatized subjects in the study group: USG – 59 (100%), CT – 48 (81.4%).

Abdominal trauma in patients with isolated or associated abdominal trauma was approached non-operative. Extra-abdominal surgeries were performed as needed.

Patients were divided into two groups based on volume of hemoperitoneum at hospitalization: group ≤ 500 ml ($n^1=38$) and group >500 ml ($n^2=21$). The division of groups according to the volume of hemoperitoneum was done for several reasons: (1) higher volume of hemoperitoneum than 500 ml of blood is a risk factor in the sense of NOM failure; (2) the amount of 450-500 ml of blood is the commonly accepted and recommended WHO volume that can be donated by a donor without impairing his health and constitutes 13% of the total blood volume [18], initially accepted as the optimal criterion for initiating NOM [19].

The algorithm for biochemical examination of traumatized patients respected the following periodicity: at hospitalization, on day 3 and on day 5 to 7. The following biochemical parameters were evaluated in patients in the study groups: nitric oxides [20, 21], S-nitrosothiols [22, 23], advanced oxidation proteic products (AOPP) [24, 25], advanced glycation products [26, 27], ceruloplasmin, total antioxidant activity AAT) [28], serum iron (standard kit *ELITECH Diagnostics*, France) with the use of analyzers Synergy H1 (*BioTek Instruments*, USA) and *Bio Stack Ready* (*BioTek Instruments*, USA) at the Laboratory of biochemistry of *Nicolae Testemitanu* State Medical and Pharmaceutical University.

Statistical processing of the results of biochemical investigations was done using the „StatsDirect” soft. Arithmetic mean \pm mean error ($X \pm m$) was calculated. To test the significant difference between the studied indices of the compared groups, the bicaudal unpaired t-Student statistical test and significance threshold of $p < 0.05$ were used [29, 30, 31].

Results

The mean age of patients was 37.6 ± 15.2 years, male : female ratio was 2.7: 1. The following average values of Severity scores were attested: ISS = 22.92 ± 11.92 ; RTS = 7.36 ± 1.01 and TRISS = $90.43 \pm 18.28\%$.

The study found that total serum iron in patients with hemoperitoneum was within the reference values ($6.63-28.28$ $\mu\text{mol/l}$) in both groups throughout the 1st study, the 3rd and 5-7 days (Table 1). The physiological maintenance of sideremia attests that the resorption of hemoperitoneum is not accompanied by the accumulation of iron ions released from hemoglobin in the blood serum, possibly embedded in transferrin and transported to the storage or reuse site.

înglobați în transferină și transportați spre sediul de depozitare sau reutilizare.

Conținutul ceruloplasminei nu prezintă diferențe statistic semnificative la pacienții lotului >500 ml, comparativ cu cei din lotul ≤500 ml. La traumatizații ambelor loturi s-a stabilit creșterea veridică, în dinamică, a nivelului proteinei care la a 3-a zi a fost cu cca 20% peste valorile identificate inițial (ziua 1-a), iar la ziua a 5-7-a – cu 39% peste cele inițiale (Tabelul 1). Creșterea ceruloplasminei poate fi un factor ce menține nivelul sideremiei în limitele valorilor de referință, prin acțiunea sa fieroxidazică, ce favorizează depozitarea fierului. Această acțiune poate fi și un factor de protecție antioxidantă, prin limitarea accesibilității fierului pentru reacția Fenton.

Nu au fost identificate diferențe în nivelul de activitate antioxidantă totală la pacienții cu traumatisme și hemoperitoneu din ambele loturi la toate etapele de studiu – 1-a, 3-a și a 5-7-a zi după traumă (Tabelul 1).

Cercetarea a identificat valori semnificativ crescute ale NO în serul pacienților din ambele loturi, comparativ cu valorile de referință – $24,8 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$ la bărbați și $24,4 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$ – la femei [32], ce atestă o amplificare a stresului nitrozativ. Conținutul oxidului nitric (NO) este similar la bolnavii cu traumatisme asociate cu hemoperitoneu din loturile ≤500 ml și >500 ml, la toate etapele studiului (Tabelul 2). În limitele

The content of ceruloplasmin did not show statistically significant differences in group >500 ml patients compared to those in group ≤500 ml. The trauma patients of both groups was determined by the dynamic increase in protein level, which at day 3 was about 20% above the values initially identified (day 1), and on day 5-7 with 39% higher (Table 1). Increase of ceruloplasmin can be a factor that maintains the level of sideremia within the limits of the reference values, by its ferroxidase action which promotes the storage of iron. This action can also be an antioxidant protection factor by limiting the availability of iron for the Fenton reaction.

There were no differences in total antioxidant activity in trauma patients with hemoperitoneum in both groups at all study stages – 1st, 3rd and 5-7th day after trauma (Table 1).

The research identified significantly increased NO values in the serum of patients in both groups compared to baseline values – $24,8 \pm 0,02 \mu\text{mol/L}$ in men and $24,4 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$ in females [32], which proves an increase in nitrous stress. The content of nitric oxide (NO) is similar in patients with associated hemoperitoneum in group ≤500 ml and >500 ml at all stages of the study (Table 2). Within the same group, the NO level is statistically significantly reduced by 7% ($p < 0,05$) on the 5-7th day compared to values at 3-rd day in patients of group ≤500 ml and untruthful by 3.7% in group >500 ml.

Tabelul 1. Dinamica sideremiei, nivelului seric al ceruloplasminei și activității antioxidante totale la pacienții traumatizați cu hemoperitoneu.

Table 1. The dynamics of serum iron, serum ceruloplasmin and total antioxidant activity in patients with hemoperitoneum.

Termen <i>Term</i>	Lotul ≤500 ml <i>Group ≤500 ml</i>	Lotul >500 ml <i>Group >500 ml</i>
Fierul seric (Serum iron), $\mu\text{mol/l}$		
1-a zi (1st day)	11,81±2,89	12,35±3,63
3-a zi (3rd day)	12,35±3,03	12,20±3,75
5-7-a zi (5-7th day)	11,77±1,22	11,31±1,12
Ceruloplasmina (Ceruloplasmin), mg/l		
1-a zi (1st day)	283,17±81,81***	272,61±63,27*
3-a zi (3rd day)	345,54±86,49*/***	327,32±73,17*
5-7-a zi (5-7th day)	394,33±84,59*	377,95±96,01
AAT cu ABTS (AAT with ABTS), mmol/l		
1-a zi (1st day)	0,33±0,06	0,35±0,07
3-a zi (3rd day)	0,33±0,09	0,33±0,05
5-7-a zi (5-7th day)	0,31±0,05	0,31±0,06

Notă (note): * <0,05; ** <0,01; *** <0,001.

Tabelul 2. Dinamica conținutului de oxid nitric și S-nitrozotoli la traumatizații cu hemoperitoneu.

Table 2. The dynamics of nitric oxide and S-nitrosothiols in trauma patients with hemoperitoneum.

Termen <i>Term</i>	Lotul ≤500 ml <i>Group ≤500 ml</i>	Lotul >500 ml <i>Group >500 ml</i>
Oxid nitric (Nitric oxide), $\mu\text{mol/l}$		
1-a zi (1st day)	77,68±8,65	78,95±8,92
3-a zi (3rd day)	79,96±9,79	77,16±6,09
5-7-a zi (5-7th day)	74,58±13,20	74,30±14,24
S-nitrozotoli (S-nitrosothiols), $\mu\text{mol/l}$		
1-a zi (1st day)	2,18±0,25***	2,23±0,33
3-a zi (3rd day)	1,99±0,17*** / ***	2,09±0,26
5-7-a zi (5-7th day)	1,83±0,20***	1,95±0,30

Notă (note): * <0,05; ** <0,01; *** <0,001.

aceluiași lot, nivelul NO se micșorează statistic semnificativ cu 7% ($p<0,05$) la a 5-7-a zi, comparativ cu valorile acestuia la a 3-a zi, la pacienții lotului ≤ 500 ml și nesemnificativ, cu 3,7% – la cei din lotul >500 ml.

Valorile S-nitrozotiolilor la traumatizații lotului ≤ 500 ml are o dinamică analogică cu cea a NO, care la a 3-a zi au atins nivelul de 91% ($p<0,001$) de la cel inițial (la 1-a zi după traumă), iar la a 5-7-a zi – de 84%, respectiv. În lotul >500 ml, se atestă aceeași tendință de diminuare – până la 94% și 87% din valorile specifice zilei 1, dar schimbările date nu sunt statistic semnificative (Tabelul 2).

Micșorarea concomitentă a NO și S-nitrozotiolilor sugerează diminuarea stresului nitrozativ, datorită micșorării formării NO și nu a utilizării compusului în reacțiile de nitrozilare a altor substanțe.

Rezultatele investigării impactului stresului oxidativ asupra metabolismului proteic, reflectat de PPOA și AGE, sunt însumate în datele statistice din Tabelul 3. Evaluarea nivelului PPOA la traumatizații cu hemoperitoneu a identificat diminuarea progresivă a acestuia în ambele loturi, modificările fiind statistic veridice doar la pacienții lotului ≤ 500 ml la a 5-7-a zi de la traumatism. La acești bolnavi s-a atestat o scădere cu 29% a valorilor PPOA în serul sangvin. Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic în valorile PPOA între loturile de studiu.

De asemenea, nu au fost stabilite diferențe veridice ale conținutului de AGE la pacienții din lotul ≤ 500 ml și >500 ml. La pacienții aceluiși lot, nivelul AGE scade neconcludent în evoluția hemoperitoneului către a 5-7-a zi de la traumatism. La pacienții lotului ≤ 500 ml, diminuarea AGE a fost progresivă – cu 5% către ziua a 3-a și cu 9% – către a 5-7-a de la traumatism. În lotul >500 ml, conținutul AGE s-a majorat inițial, către a 3-a zi, cu 4%, ulterior, s-a micșorat cu 12% către 5-7-a zi.

Discuții

Managementul nonoperator al pacienților cu hemoperitoneu posttraumatic, condiționat de leziuni ale organelor parenchimotoase la pacienții hemodinamic stabili, este o strategie unanim acceptată la momentul actual [33, 34]. Circa 71-89% din toți pacienții cu traumatisme abdominale închise și leziune a organelor parenchimotoase, care au o hemodina-

S-nitrosothiol values in group ≤ 500 ml trauma patients are analogous to that of NO, which at day 3 reached 91% ($p<0,001$) from baseline (day 1 post-traumatic) and at baseline 5-7th day – 84%, respectively. In group >500 ml, the same tendency to decrease up to 94% and 87% of day 1 values is observed, but the changes are not statistically significant (Table 2).

Concomitant reduction of NO and S-nitrosothiols suggests the reduction of nitrous stress due to the reduction of NO formation and not the use of the compound in nitrosating reactions of other substances.

Investigation results of oxidative stress impact on protein metabolism, reflected by AOPP and AGE, are summed up in the statistical data in Table 3. The evaluation of the AOPP level in trauma patients with hemoperitoneum identified its progressive diminution in both groups, the changes being statistically significant only in patients of group ≤ 500 ml at 5-7 days after the trauma. These patients were shown to have a 29% decrease in blood serum AOPP values. No statistically significant differences in AOPP values were found between the study groups.

Also, true differences in AGE content were not established in patients in groups I and II. In patients in the same group, AGE levels decreases inconclusive in the evolution of hemoperitoneum to 5-7 days after the trauma. In patients in group ≤ 500 ml, the decrease in AGE was progressive – 5% on day 3 and 9% – to 5-7th from trauma. In group >500 ml, the AGE content increased initially at 3-rd day by 4%, and then decreased by 12% to 5-7 days.

Discussion

Non-operative management of patients with traumatic hemoperitoneum caused by parenchymal organ lesions in stable haemodynamic patients is a commonly accepted strategy [33, 34]. Approximately 71-89% of all patients with blunt abdominal trauma and parenchymal organ damage, who have stable hemodynamics, are treated nonoperatively, with a success rate of 85% to 94% [35, 36, 37].

However, the personalized approach to traumatized patients with hemoperitoneum is still a problem, given the uncertainty of the criteria that make it possible to substantiate the non-operative tactic of the condition and the need for con-

Tabelul 3. Dinamica produșilor proteici de oxidare avansată și a produșilor finali de glicare avansată la traumatizații cu hemoperitoneu.

Table 3. Dynamics of advanced oxidation proteic products and advanced glycation end products in trauma patients with hemoperitoneum.

Termen Term	Lotul ≤ 500 ml Group ≤ 500 ml	Lotul >500 ml Group >500 ml
PPOA (AOPP), $\mu\text{mol/l}$		
1-a zi (1 st day)	37,87 \pm 20,43	32,14 \pm 18,61
3-a zi (3 rd day)	34,75 \pm 17,89	28,06 \pm 17,33
5-7-a zi (5-7 th day)	27,15 \pm 13,28	24,19 \pm 19,52
AGE (AGE), mmol/l		
1-a zi (1 st day)	503,36 \pm 176,30	522,67 \pm 170,96
3-a zi (3 rd day)	476,88 \pm 179,10	542,33 \pm 186,09
5-7-a zi (5-7 th day)	457,95 \pm 164,69	476,66 \pm 155,48

Notă (note): * $<0,05$; ** $<0,01$; *** $<0,001$. PPOA – produși proteici de oxidare avansată (AOPP – advanced oxidation proteic products); AGE – produși finali de glicare avansată (AGE – advanced glycation end products).

mică stabilă, sunt tratați nonoperator, cu o rată a succesului cuprinsă între 85% și 94% [35, 36, 37].

Totuși, abordarea personalizată a pacienților traumatizați cu hemoperitoneu este, în continuare, o problemă, dată fiind incertitudinea criteriilor ce permit fundamentarea tacticii nonoperatorii a stării respective și necesitatea monitorizării continue a evoluției hemoperitoneului. În acest context, este utilă identificarea unor markeri de laborator care ar completa și ar permite sporirea informativității și sensibilității metodelor utilizate actualmente pentru selectarea pacienților care pot fi tratați nonoperator. De asemenea, este necesară identificarea unor markeri ai evoluției hemoperitoneului posttraumatic pentru monitorizarea stării patologice și pentru intervenția promptă în cazul dezvoltării complicațiilor.

Studiul de față s-a axat pe evaluarea modificărilor intensității stresului oxidativ și a capacității de protecție antioxidantă la pacienții traumatizați cu hemoperitoneu, în scopul identificării potențialului acestora în calitate de markeri diagnostici și prognostici.

Cercetarea a relevat că în hemoperitoneul posttraumatic, indiferent de volumul de sânge acumulat în abdomen, nu se atestă creșterea nivelului sideremiei peste valorile de referință. Rezultatul menționat confirmă încă o dată resorbția integrală a eritrocitelor din cavitatea abdominală, care a fost relatată mai înainte de Lemaire M. și coaut. (1957), Brouard R. și coaut. (1992) și alții [38, 39, 40].

Menținerea la nivel fiziologic al fierului sanguin este imperativă pentru prevenirea intensificării stresului oxidativ de către speciile reactive ale oxigenului datorită participării fierului redus în reacția Fenton: $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$ [41]. Contribuie la menținerea la nivel diminuat al stresului oxidativ și creșterea progresivă a conținutului de ceruloplasmină la toți pacienții incluși în studiu. Proteina intervine în acest proces prin activitatea sa enzimatică de fieroxidază. Menținând fierul în formă oxidată (Fe^{3+}) – formă, care este mai facil depozitată în transferină, ceruloplasmina elimină forma redusă a fierului din procesele oxidative [42, 43].

Este bine cunoscut faptul că NO și derivații acestuia reprezintă speciile reactive ale azotului care, în condiții normale, în calitate lor de mesageri, reglează numeroase procese fiziologice, iar în patologie, din cauza hiperproducției, determină dezvoltarea stresului nitrozativ, însoțit de nitrozilarea diferitor compuși biologici [44, 45, 46].

La pacienții traumatizați cu hemoperitoneu s-a atestat creșterea de cca 3 ori peste valorile de referință a conținutului de NO la 1-a și a 3-a zi de la traumă în ambele loturi de studiu, cu diminuarea semnificativă în lotul ≤ 500 ml și neveridică în lotul > 500 ml la a 5-7-a zi. Mai vădită a fost micșorarea nivelului produșilor de nitrozilare – S-nitrozotiolilor în evoluția hemoperitoneului posttraumatic. Astfel, putem conchide că hemoperitoneul posttraumatic determină intensificarea stresului nitrozativ, care se ameliorează în dinamică către ziua a 5-7-a de la traumatism.

În pofida atenției acordate studiului PPOA, în ultima perioadă, valorile de referință ale PPOA la persoanele sănătoase nu sunt cunoscute, iar datele literaturii referitor la nivelul compușilor în diferite maladii sunt contradictorii [47, 48]. Stu-

tinuous monitoring of hemoperitoneum. In this context, it is useful to identify lab markers that would complement and enable the awareness and sensitivity of the methods currently used to select patients who can be treated non-operative. It is also necessary to establish markers of the evolution of post-traumatic hemoperitoneum for pathological condition monitoring and prompt intervention in the development of complications.

This study focused on the evaluation of changes in oxidative stress intensity and antioxidant protection capacity in traumatized patients with hemoperitoneum in order to identify their potential as diagnostic and prognostic markers.

The research revealed that in the posttraumatic haemoperitoneum, regardless of the volume of blood accumulated in the abdomen, there is no evidence of increased levels of sideremia above the reference values. This result confirms once again the complete resorption of erythrocytes in the abdominal cavity, which was previously reported by Lemaire M. and coaut. (1957), Brouard R. and coaut. (1992), and others [38, 39, 40].

Physiological maintenance of blood iron is imperative to prevent the oxidative stress increase by the reactive species of oxygen due to reduced iron participation in the Fenton reaction: $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$ [41]. The progressive increase in ceruloplasmin content in all patients included in the study contributes to the diminution of oxidative stress. The protein is involved in this process by its enzymatic ferroxidase activity. By keeping the iron in oxidized form (Fe^{3+}) – a form that is more easily deposited in the transferrin, ceruloplasmin eliminates the reduced iron form in the oxidative processes [42, 43].

It is well known that NO and its derivatives represent the reactive species of nitrogen, which in normal conditions as messengers regulate many physiological processes, but in pathology due to hyperproduction, it determines the development of nitrous stress, accompanied by nitrosilation of various biological compounds [44, 45, 46].

In traumatized patients with hemoperitoneum was confirmed the increase of about 3 times above the reference values of NO content on the 1st and 3rd day of the trauma in both study groups with the significant decrease in group ≤ 500 ml and untruthfull in group > 500 ml at 5-7th day. The decrease level of nitrosilation products – S-nitrosothiols in the evolution of post-traumatic hemoperitonem was more evident. Thus, we can conclude that posttraumatic hemoperitoneum leads to the intensification of the nitrosating stress, which improves dynamically towards the 5-7th day of the trauma.

Despite the recent study attention given to the AOPP, its reference values in healthy people are not known, and literature data on the level of compounds in different diseases is contradictory [47, 48]. This study found that in patients with traumatic hemoperitoneum, progressive decrease of AOPP level is evidenced, which can be further proof of decrease in the intensity of oxidative stress towards the 5-7th day of trauma, because AOPP are products of oxidative protein alterations that are formed by the interaction of plasma proteins, predominantly albumin, with chlorine-containing oxidants generated by myeloperoxidase of phagocytic cells [49].

diul de față a stabilit că, în dinamică, la pacienții traumatizați cu hemoperitoneu, se atestă micșorarea progresivă a nivelului PPOA, ce poate fi o dovadă suplimentară a scăderii intensității stresului oxidativ către ziua a 5-7-a de la traumă, deoarece PPOA sunt produși ai modificării oxidative a proteinelor, care se formează la interacțiunea proteinelor plasmei, preponderent a albuminelor, cu oxidanții ce conțin clor, generați de mieleperoxidaza celulelor fagocitante [49].

Luând în considerație faptul că PPOA pot fi promotori ai stresului oxidativ și mediatori ai inflamației în diverse stări patologice [47, 51], scăderea acestora, probabil, relevă indirect și micșorarea riscului stresului oxidativ și a inflamației în trauma cu hemoperitoneu.

O dinamică similară cu cea a PPOA a fost identificată și la conținutul de AGE, care s-a micșorat neconcludent din 1-a zi către ziua a 5-7-a de la traumă. Studiile anterioare relevă că AGE – produșii glicării neenzimatice a proteinelor, se formează în cantități semnificative în condiții de hiperglicemie, hiperlipidemie, stres oxidativ și inflamație [50-52]. Astfel, putem conchide că micșorarea AGE la persoanele traumatizate cu hemoperitoneu atestă diminuarea intensității stresului oxidativ în evoluția bolii traumatice.

Generalizând rezultatele cercetării, putem concluziona că traumatismul cu hemoperitoneu se caracterizează prin creșterea stresului oxidativ imediat după traumă și diminuarea intensității procesului, precum și amplificarea protecției antioxidante și diminuarea consecințelor negative în dinamică. Fenomenele menționate sunt relevate de valorile majorate ale NO, S-nitrozotiolilor, ceruloplasminei, PPOA și AGE în ziua 1-a după traumă și micșorarea conținutului de NO, S-nitrozotiolilor, PPOA și AGE, și creșterea ceruloplasminei, progresiv către ziua a 5-7-a de la traumatism, indiferent de volumul hemoperitoneului.

Concluzii

- 1) Evaluarea toxicității hemoperitoneului posttraumatic, abordat nonoperator prin determinarea valorilor medii ale substanțelor necrotice în calitate de indicator al sindromului de intoxicație, a demonstrat lipsa diferențelor statistice între valorile medii, indiferent de volumul hemoperitoneului atât la spitalizare, cât și în dinamică.
- 2) Nivelul SMMM a cunoscut o scădere progresivă semnificativă în dinamică, dar fără diferențe statistice concludente la pacienții din ambele loturi.
- 3) Hemoperitoneul posttraumatic nu manifestă toxicitate asupra organismului, indiferent de volumul acestuia, fiind analizat prin prisma parametrilor biochimici SN și SMMM, ca indicatori ai toxicității.
- 4) Analiza valorilor PPOA, AGE și AAT nu a determinat diferențe statistice concludente atât în dinamică în ambele loturi de pacienți, cât și între loturi, fapt ce sugerează că volumul hemoperitoneului nu induce apariția stresului oxidativ și nu afectează capacitatea organismului de contracarare a stresului oxidativ extern prin menținerea activității antioxidante totale.

Taking into account that PPOAs can be promoters of oxidative stress and mediators of inflammation in various pathological conditions [47, 51], their decrease can indirectly reveal also the reducing the risk of oxidative stress and inflammation in hemoperitoneum trauma.

Dynamics similar to that of AOPP was also found in AGE content, which decreased inconclusively from day 1 to day 5-7 from trauma. Background studies reveals that AGE – the products of non-enzymatic protein glycation, are formed in significant amounts under conditions of hyperglycemia, hyperlipidemia, oxidative stress and inflammation [50-52]. Thus, we can conclude that the decrease of AGE in traumatized persons with hemoperitoneum shows the diminution of the intensity of the oxidative stress in the evolution of the traumatic disease.

Generalizing the results of the research, we can conclude that traumatism with hemoperitoneum is characterized by the increase of the oxidative stress immediately after the trauma and the decrease of the intensity of the process, as well as the amplification of the antioxidant protection and the diminution of the negative consequences in the dynamics. These phenomena are revealed by the increased NO, S-nitrosothiol, ceruloplasmin, AOPP and AGE levels on Day 1 after trauma and decreased NO, S-nitrosothiol, AOPP and AGE levels, and progressive increase of ceruloplasmin to day 5-7, from trauma, regardless of the volume of hemoperitoneum.

Conclusions

- 1) The evaluation of the toxicity of post-traumatic hemoperitoneum treated non-operative by determining the mean values of necrotic substances as an indicator of intoxication syndrome showed the lack of statistic differences between the mean values, no matter the volume of hemoperitoneum in hospitalization and in dynamics.
- 2) The SMMM level determined a significant progressive decrease in dynamics, but without statistically significant differences between both groups.
- 3) Posttraumatic hemoperitoneum does not show toxicity to the organism irrespective of its volume, being analyzed from the perspective of the biochemical parameters SN and SMMM as factors of toxicity.
- 4) The analysis of AOPP, AGE and AAT values did not show to statistically significant differences both in dynamics in both groups of patients and between groups, suggesting that the volume of hemoperitoneum did not induce oxidative stress and does not affect the body's ability to counteract external oxidative stress by maintaining total antioxidant activity.

Declaration of conflict of interests

The authors declare lack of any conflict of interests, financial, or nonfinancial, associated with this study.

Authors' contribution

All authors have contributed equally in the study and writing of the manuscript.

Declarația de conflict de interes

Autorii declară lipsa conflictului de interes, financiare sau nonfinanciare, asociate cu această lucrare.

Contribuția autorilor

Toți autorii au contribuit în mod egal la realizarea studiului și la scrierea manuscrisului.

Referințe / references

- Alberdi F, Garcia I, Atutxa L. *et al.* Epidemiology of severe trauma. *Medicina Intensiva*, 2014; 38 (9): 580-8.
- Gad M, Saber A, Farrag S. *et al.* Incidence, patterns, and factors predicting mortality of abdominal injuries in trauma patients. *North American Journal of Medical Sciences*, 2012; 4 (3): 129-134.
- Hemmila M, Wahl W. Management of the injured patients. In: Doherty G. Meditor Current surgical diagnosis and treatment. New York: Mc Graw-Hill Medical, 2008; 227-228.
- Saleem A, Raheem O, Abdallah H. *et al.* Epidemiological evaluation and outcome of pure abdominal trauma victims who underwent surgical exploratory laparotomy. *Al-Azhar Asiut Medical Journal*, 2016; 14 (1): 24-28.
- Gosling P, Dickson G. Serum C-reactive protein in patients with serious trauma. *Injury*, 1992; 23 (7): 483-6.
- da Costa L, Carmona M, Malbouisson L. *et al.* Independent early predictors of mortality in polytrauma patients: a prospective, observational, longitudinal study. *Clinics (Sao Paulo)*, 2017; 72 (8): 461-468. doi: 10.6061/clinics/2017(08)02
- Zheng F, Xia Z.-A., Zeng Y.-F. *et al.* Plasma metabolomics profiles in rats with acute traumatic brain injury. *PLoS ONE*, 2017; 12 (8): e0182025.
- Sakran J, Michetti C, Sheridan M. *et al.* The utility of procalcitonin in critically ill trauma patients. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2012; 73 (2): 413-8.
- Hayakawa M, Maekawa K, Kushimoto S. *et al.* High d-dimer levels predict a poor outcome in patients with severe trauma, even with high fibrinogen levels on arrival: a multicenter retrospective study. *Shock*, 2016; 45: 308-314.
- Theusinger O, Baulig W, Seifert B, Müller S. *et al.* Changes in coagulation in standard laboratory tests and ROTEM in trauma patients between on-scene and arrival in the emergency department. *Anesthesia and Analgesia*, 2015; 120 (3): 627-635.
- Maier M, Wutzler S, Lehnert M. *et al.* Serum procalcitonin levels in patients with multiple injuries including visceral trauma. *J. Trauma*, 2009; 66 (1): 243-9.
- Matsumoto S, Sekine K, Funaoka H. *et al.* Early diagnosis of hollow viscus injury using intestinal fatty acid-binding protein in blunt trauma patients. *Medicine*, 2017; 96 (10): e6187.
- Musalar E, Ersel M, Akarca F. *et al.* The predictive value of biochemical parameters in evaluating patients with abdominal trauma: the new scoring system. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 2017 (2): 48-55.
- Rana S, Kashinath D, Singh G, Pal R, Singh R. Study on oxidative stress in patients with abdominal trauma. *Mol. Cell. Biochem.*, 2006; 291: 161. doi.org/10.1007/s11010-006-9210-y.
- Kilicoglu B, Eroglu E., Kilicoglu S., Kismet K., Eroglu F. Effect of abdominal trauma on hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 2006; 12 (22): 3593-3596. doi.org/10.3748/wjg.v12.i22.3593.
- Zallen G, Moore E., Johnson J. *et al.* Circulating postinjury neutrophils are primed for the release of proinflammatory cytokines. *J. Trauma*, 1999; 46: 42-48.
- Boulton F. The 13% rule. Comments. *Transfusion Today*, 2007; 71: 7-9.
- Rutledge R, Hunt J., Lentz C. *et al.* A statewide, population-based time-series analysis of the increasing frequency of nonoperative management of abdominal solid organ injury. *Ann. Surg.*, 1995; 222 (3): 311-326.
- Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови. *Клин. лабор. д-ка*, 2005; 6: 15-18.
- Gudumac V, Tagadiuc O., Andronache L. *et al.* Procedeu de microdozare a conținutului de metaboliți sumari ai oxidului nitric. Certificat de inovator nr. 5008 din 22.11.2011.
- Marzinzin M, Nussler A, Stadler J. *et al.* Improved methods to measure end products of nitric oxide in biological fluids: nitrite, nitrate, and S-nitrosothiols. *Nitric oxide*, 1997; 1: 177-189.
- Haqqani A, Skyz K, Birnboim H. The role of a formaldehyde dehydrogenase-glutathione pathway in protein S-nitrosation in mammalian cells. *Nitric Oxide*, 2003; 9 (3): 172-181.
- Capeillère-Blandin C., Gausson V, Descamps-Latscha B., Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochim. Biophys. Acta*, 2004; 1689 (2): 91-102.
- Gudumac V, Tagadiuc O., Andronache L. *et al.* Procedeu de dozare a produșilor proteici de oxidare avansată. Certificat de inovator nr. 5164 din 14.12.2012.
- Makita Z., Vlassara H., Cerami A., Bucala R. Immunochemical detection of advanced glycosylation end products *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 5133-5138.
- Gudumac V, Tagadiuc O., Sardari V, Știrba O., Pantea V. Procedeu de dozare a produselor finale de glicare avansată. Certificat de inovator nr. 5156 din 14.12.2012.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 1999; 26 (9/10): 1023-37.
- Венчиков А., Венчиков В. Основные приемы статистической обработки результатов наблюдений в области физиологии. Москва: Медицина, 1974. 151 стр.

29. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. Москва: Практическая медицина, 2011. 477 с.
30. Băicuș C. Medicina bazată pe dovezi: cum înțelegem studiile. București: Editura medicală, 2007. 143 p.
31. Ghasemi A., Zahedi Asl S., Mehrabi Y. *et al.* Serum nitric oxide metabolite levels in a general healthy population: relation to sex and age. *Life Sci*, 2008; 83 (9-10): 326-31.
32. Peitzman A., Richardson J. Surgical treatment of injuries to the solid abdominal organs: a 50-year perspective from the Journal of Trauma. *J. Trauma*, 2010; 69 (5): 1011-21.
33. Beuran M., Negoii I., Paun S. *et al.* Selective nonoperative management of solid abdominal visceral lesions. *Chirurgia (București)*, 2010; 105: 317-326.
34. Gurghiș R. Managementul nonoperator și miniminvasiv al leziunilor traumatiche închise ale organelor abdominale parenchimatose. Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale. Chișinău; 2012, 10 p.
35. Malhotra A., Fabian T., Croce M. *et al.* Blunt hepatic injury: a paradigm shift from operative to nonoperative management in the 1990s. *Ann. Surg.*, 2000; 231: 804-13.
36. Miller P., Croce M., Bee T. *et al.* Associated injuries in blunt solid organ trauma: implications for missed injury in nonoperative management. *J. Trauma*, 2002; 53 (1): 238-44.
37. Lemaire M., Diamond I., Langer J. Whole or parts – the fate of hemoperitoneum. *Surgery*, 2009; 146 (5): 947-949.
38. Pritchard J., Weisman R. The absorption of labeled erythrocytes from the peritoneal cavity of humans. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1957; 49: 756-761.
39. Brouard R., Tozer T., Baumelou A. *et al.* Transfer of autologous haemoglobin from the peritoneal cavity during peritoneal dialysis. *Nephrol. Dial. Transplant*, 1992; 7 (1): 57-62.
40. Patel M., Ramavataram D. Non transferrin bound iron: nature, manifestations and analytical approaches for estimation. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2012; 27 (4): 322-332.
41. Brissot P., Loréal O. Iron metabolism and related genetic diseases: a cleared land, keeping mysteries. *J. Hepatol.*, 2016; 64 (2): 505-515.
42. Okamoto N., Wada S., Oga T. *et al.* Hereditary ceruloplasmin deficiency with hemosiderosis. *Hum. Genet.*, 1996; 97:755-758.
43. Hu X., Tao C., Gan Q. *et al.* Oxidative stress in intracerebral hemorrhage: sources, mechanisms, and therapeutic targets. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016: 3215391.
44. Li N., Worthmann H., Deb M. *et al.* Nitric oxide (NO) and asymmetric dimethylarginine (ADMA): their pathophysiological role and involvement in intracerebral hemorrhage. *Neurological Research*, 2011; 33 (5): 541-548.
45. Ding R., Chen Y., Yang S. *et al.* Blood-brain barrier disruption induced by hemoglobin *in vivo*: involvement of up-regulation of nitric oxide synthase and peroxynitrite formation. *Brain Research*, 2014; 1571: 25-38.
46. Grysczyńska B., Formanowicz D., Budzyń M. *et al.* Advanced oxidation protein products and carbonylated proteins as biomarkers of oxidative stress in selected atherosclerosis-mediated diseases. *BioMed Research International*, 2017: 4975264.
47. Selmeçli L. Advanced oxidation protein products (AOPP): novel uremic toxins, or components of the non-enzymatic antioxidant system of the plasma proteome? *Free Radical Research*, 2011; 45 (10): 1115-1123.
48. Cao W., Hou F., Nie J. AOPPs and the progression of kidney disease. *Kidney International Supplements*, 2014; 4(1): 102-106.
49. Selmeçli L. Advanced oxidation protein products (AOPP): novel uremic toxins, or components of the non-enzymatic antioxidant system of the plasma proteome? *Free Radical Research*, 2011; 45 (10): 1115-1123.
50. Aragno M., Mastrocola R. Dietary sugars and endogenous formation of advanced glycation endproducts: emerging mechanisms of disease. *Nutrients*, 2017; 9 (4): 385.
51. Yan S., Ramasamy R., Naka Y., Schmidt A. Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ. Res.*, 2003; 93 (12): 1159-69.
52. Friehoff J., Winyard P., Zarkovic N. *et al.* Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2015; 23 (14): 1144-1170.